

制限増殖型アデノウイルスと塩酸 Gemcitabine を併用した膵癌に対する遺伝子治療

| | |
|-----|---|
| 著者 | 乙供 茂 |
| 号 | 2060 |
| 発行年 | 2004 |
| URL | http://hdl.handle.net/10097/22605 |

| | | | |
|-------------|--|---------|----------|
| 氏 名（本籍） | おっ 乙 | とも 供 | しげる 茂 |
| 学 位 の 種 類 | 博 士 （ 医 学 ） | | |
| 学 位 記 番 号 | 医 博 第 2 0 6 0 号 | | |
| 学位授与年月日 | 平 成 16 年 3 月 25 日 | | |
| 学位授与の条件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当 | | |
| 研 究 科 専 攻 | 東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）医科学専攻 | | |
| 学 位 論 文 題 目 | Gene therapy for pancreatic cancer by replication-competent adenovirus combined with Gemcitabine （制限増殖型アデノウイルスと塩酸 Gemcitabine を併用した膵癌に対する遺伝子治療） | | |
| 論文審査委員 | <p>（主 査）</p> <p>教授 松 野 正 紀 教授 下瀬川 徹</p> <p>教授 貫 和 敏 博</p> | | |

論 文 内 容 要 旨

膵癌は、本邦統計によると全癌死の第5位に位置しており、欧米の統計も同様な傾向を示している。膵癌の治療成績が不良である原因としては、早期診断が困難であること、手術の難易度が高いこと、化学療法や放射線療法に抵抗性を示すことなどが挙げられる。また、膵癌自体の細胞学的悪性度が非常に高く、転移・浸潤が早期に起こることもその一因として重要である。解剖学的にも血管浸潤を高頻度に認めることから、発見時すでに根治切除不能であることが多い。

新規化学療法 Gemcitabine (GEM) は、多くの固形腫瘍に効果があることが報告されている。GEM は、S 期に DNA 鎖に取り込まれ DNA 伸長停止を起こし、細胞を apoptosis へ誘導する。今回の実験では、膵癌細胞 11 株全てにおいて、濃度依存性に GEM の抗腫瘍効果が示された。しかしその効果は細胞株毎に大きな差があり、臨床においても GEM 化学療法に著効を示す症例と耐性を示す症例が存在する一つの根拠と考えられた。同様の実験で、5-FU 感受性試験を膵癌細胞 11 株で行ったが、こちらも細胞株毎に抗腫瘍効果に大きな差を認めた。しかし、膵癌細胞 11 株における GEM IC₅₀ と 5-FU IC₅₀ の間に相関性は認めなかった。このことは、どちらの抗癌剤も、増殖期の細胞を標的にしているが、直接の標的分子が異なることを反映していると考えられた。

様々な抗癌剤の併用療法が臨床の場において研究されその効果が示されてはいるが、未だ十分なものではない。近年、抗癌剤に代わる新しい癌治療の戦略として、制限増殖型 adenovirus を用いた遺伝子治療が注目されている。制限増殖型 adenovirus, AxdAdB-3 は、E1A, E1B 双方に mutation を持ち、dl1520 (E1B55k 欠失 adenovirus), dl922-947 (E1A 変異 adenovirus) を上回る腫瘍選択性と高い抗腫瘍効果が得られる。AxdAdB-3 に感染した膵癌細胞株は、24 時間後には S 期の増加を認め、48 時間後には細胞内の virus 増殖と細胞破壊を始める。Virus 増殖が活発に行われているタイミングに S 期に作用する GEM を投与することで、細胞内における Virus 増殖による細胞死に加えて、GEM による DNA 合成阻害という作用も加わって、より効率よく細胞を死滅させる可能性がある。

AxdAdB-3 は、GEM 感受性の比較的低かった AsPC-1, PANC-1 および GEM 感受性の比較的高かった PK-45p においては強い殺細胞効果を示した。しかし、最も GEM 感受性の低かった PK-59 においては、30 MOI の感染でも約 60% の細胞が生存していたことから、AxdAdB-3 に対する感受性も低いことが示された。PK-59 は膵癌細胞 11 株の中で、唯一 P16 に変異のない細胞株であり、細胞増殖能も膵癌細胞 11 株の中で最も低かった。各膵癌細胞株に対する virus 感染性の差という問題もあるが、P16 を上流域にもつ Rb pathway が正常で細胞周期が正常に近い細胞では virus の増殖が抑制されている可能性が示唆された。

AxdAdB-3 感染から 48 時間後に GEM を 72 時間曝露させるプロトコールにおいて、AxdAdB-3、GEM 双方に比較的感受性の高かった AsPC-1 では、併用群は AxdAdB-3 単独群の 2.9 倍、GEM 単独群の 1.6 倍の高い抗腫瘍効果を認めた。さらに AxdAdB-3、GEM 双方に比較的感受性の低い PK-59 において併用群は、AxdAdB-3 単独群の 2.8 倍、GEM 単独群の 3.4 倍の強い殺細胞効果を認めた。

AsPC-1 皮下腫瘍モデルにおいて、AxdAdB-3 腫瘍局注群および GEM 腹腔内投与群は、高い抗腫瘍効果を示した。さらに、AxdAdB-3 腫瘍局注+GEM 腹腔内投与併用群においては、各々単独群に比べて、有意差を持ってさらに強い抗腫瘍効果を示した。

腫瘍局所で増殖し破壊する Virus と全身投与で有効な GEM の併用は、局所進行により切除率が低く、かつ効率に転移をきたす膵癌に対する全身的治療法として、有望であると考えられた。

審 査 結 果 の 要 旨

膵臓癌は難治性疾患の一つであり、治療成績は極めて不良である。新規化学療法 Gemcitabine (GEM) は、多くの固形腫瘍に効果があることが報告されている。GEM は、S 期に DNA 鎖に取り込まれ DNA 伸長停止を起こし、細胞を apoptosis へ誘導する。様々な抗癌剤の併用療法が臨床の場において研究されその効果が示されているが、未だ十分なものではない。近年、抗癌剤に代わる新しい癌治療の戦略として、制限増殖型 adenovirus を用いた遺伝子治療が注目されている。制限増殖型 adenovirus ; AxdAdB-3 に感染した膵癌細胞株は、24 時間後には S 期の増加を認め、48 時間後には細胞内の virus 増殖と細胞破壊を始めることが報告されている。

本研究は、Virus 増殖が活発に行われているタイミングに S 期に作用する GEM を投与することで、細胞内における Virus 増殖による細胞死に加えて、GEM による DNA 合成阻害という作用も加わって、より効率よく細胞を死滅させる可能性に関して、GEM, 5-FU および AxdAdB-3 を用いて膵癌細胞株に対する殺細胞効果、感染が細胞周期に与える影響、アポトーシス誘導能、皮下腫瘍モデルに対する腫瘍縮小効果について、GEM 単独治療群、Virus 単独治療群、GEM+Virus 併用群の比較検討を行っている。

AxdAdB-3 は、GEM 感受性の比較的低かった AsPC-1, PANC-1 および GEM 感受性の比較的高かった PK-45p においては強い殺細胞効果を示した。しかし、最も GEM 感受性の低かった PK-59 においては、30 MOI の感染でも約 60% の細胞が生存していたことから、AxdAdB-3 に対する感受性も低いことが示された。AxdAdB-3 感染から 48 時間後に GEM を 72 時間曝露させるプロトコールにおいて、AxdAdB-3, GEM 双方に比較的感受性の高かった AsPC-1 では、併用群は AxdAdB-3 単独群の 2.9 倍、GEM 単独群の 1.6 倍の高い抗腫瘍効果を認めた。さらに AxdAdB-3, GEM 双方に比較的感受性の低い PK-59 において併用群は、AxdAdB-3 単独群の 2.8 倍、GEM 単独群の 3.4 倍の強い殺細胞効果を認めた。AsPC-1 皮下腫瘍モデルにおいて、GEM 単独治療群および Virus 単独治療群は、高い抗腫瘍効果を示した。さらに、GEM+Virus 併用治療群においては、各々単独群に比べて、有意差を持ってさらに強い抗腫瘍効果を示した。

本研究は、腫瘍局所で増殖し破壊する制限増殖型 adenovirus と全身投与で有効な GEM の併用の有用性を明らかにした点で独創的であり、十分に学位に値するものである。